©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Beobachtungen über die Wirkungen des Ultraschalls auf lebende Pflanzenzellen

Von Ernst Küster

(Vorgelegt in der Sitzung am 24. April 1952)

Seitdem die Erscheinungen der Thixotropie von den Biologen an plasmatischen Gebilden wiedergefunden und eingehend studiert worden sind und nachdem Frey-Wyssling (z. B. 1938 und 1948) mit seiner Theorie der molekularen Netzstruktur des Protoplasmas und der Lockerung und Lösung der „Haftpunkte" jenes Netzes die am lebendigen Protoplasma wahrnehmbaren Änderungen der Viskosität und andere Erscheinungen verständlich gemacht hat, haben alle Wirkungen mechanischer Angriffe auf den lebendigen Zellenleib und auf die von der Theorie geforderten Haftpunkte erhöhtes Interesse der Plasmaforschung gefunden. Viele Autoren nehmen an, daß nicht nur starke und anhaltende mechanische Behandlung, z. B. energische Schleuderung, viele Haftpunkte zu lösen und die „Fluidität" des lebendigen Plasmas zu erhöhen vermag, sondern auch bescheidenere Einwirkungen in demselben Sinne zu wirken imstande sind (vgl. z. B. Kahl 1944; Küster 1951, 110), und daß vielleicht auch die normale Plasmaströmung dahin wirken kann, daß die Viskosität des Protoplasmas gering bleibe.

Zu den Agenzien, die dem Zellenforscher, insbesondere dem Zytopathologen, neue Aufschlüsse über die angedeuteten Fragen zu geben versprechen, gehört der Ultraschall. Einige Beiträge zur Kenntnis seiner Wirkungen und der Versuch, diese mit den Wirkungen anderer Faktoren auf Erscheinungen des lebendigen Protoplasmas zu vergleichen, sind der Inhalt der nachfolgenden Seiten.

Ich bediente mich bei meinen Versuchen eines Ultraschall-

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

gerätes, eines „Sonostaten“, das die Siemens-Reiniger-Werke (Erlangen) mir leihweise zur Verfügung zu stellen die Güte hatten. Ich möchte den Genannten für ihr Entgegenkommen meinen besten Dank aussprechen.

Mit einer Frequenz von 800 kH liefert der Apparat bei Inanspruchnahme einer Netzspannung von 220 Volt eine Intensität von 2,5 Watt pro Quadratzentimeter der Schallkopfoberfläche. Welche Intensität das auf dem Schallkopf liegende Objekt erreicht, bleibt freilich fraglich.

Die Anwendung des Apparates ist sehr einfach: Auf den Schallkopf werden einige Tropfen Wasser aufgetragen und in dieses das zur Untersuchung gewählte Objekt eingelegt — oder das Objekt wird in der üblichen Weise in Wasser auf den Objektträger gebracht und mit oder ohne Deckglasbedeckung beschallt; zwischen Schallkopf und Objektträger befindet sich Wasser.

Bei allen im folgenden beschriebenen Versuchen wurde mit ungefähr 220 Volt gearbeitet und der „Leistungsregler“ derart eingestellt, daß — wie oben erwähnt — 2,5 Watt zu erwarten waren.

Viele der von mir untersuchten Zellenarten widerstehen den soeben erläuterten schwachen Ultraschallangriffen gut und lassen hinsichtlich ihres plasmamorphologischen Aussehens oder ihres Plamolyseverhaltens auch nach einer Behandlung von 10, 20 und 30 Minuten keine wesentlichen Veränderungen erkennen, die auf die Beschallung zurückzuführen zuverlässig gestattet schiene. Zu den im angeführten Sinne besonders widerstandsfähigen Objekten rechne ich viele der dem experimentell arbeitenden Zytologen wohlvertrauten Objekte, z. B. die Konvexepidermen der Zwiebelschuppen von Allium cepa, die anthozyanreiche Epidermis der Unterseite der Blätter von Rhoeo discolor, die Zellen der Cladophora[1], des Hydrodictyon u. a. m.

Zu einer zweiten Gruppe lassen sich diejenigen Objekte vereinigen, die durch Ultraschallbehandlung in ihrer Plasmabeschaffenheit zwar deutlich verändert werden, aber solche Veränderungen keineswegs an allen behandelten Zellen, vielmehr nur an einzelnen oder wenigen erkennen lassen; der Gedanke liegt nahe, daß die bei der Ultraschallbehandlung ihren Zustand nicht

[1] Auf die Widerstandsfähigkeit der Cladophora hat Tscherniuk (1940) bereits hingewiesen.

bewahrenden Zellen schon vor der Behandlung irgendeinen Defekt gehabt und durch diesen ihre Widerstandsfähigkeit gegenüber der Ultraschallbehandlung eingebüßt haben; ich möchte annehmen, daß bei Prüfung der z. B. an den Sporangienträgern von Phycomyces, den Charazeenzellen u. a. beobachteten Erscheinungen jener Möglichkeit Rechnung zu tragen sein wird.

Eine dritte Gruppe liefern diejenigen Objekte, deren Zellen sämtlich oder zum großen Teil in gleicher oder ähnlicher Weise durch die Ultraschallbehandlung verändert werden. Auf völlig übereinstimmende Veränderungen der im Präparat vereinigten Zellen darf freilich auch diesen Objekten gegenüber keineswegs gerechnet werden — wir wissen nicht, ob selbst benachbarte Zellen von den wirksamen Faktoren in ungleicher Weise betroffen werden oder ob die Zellen infolge ungleichartiger Reaktionsfähigkeit auf dieselben Angriffe nicht völlig gleich reagieren. Dergleichen Unterschiede der von den Zellen ausgeführten Reaktionen sind den mit der Zellenpathologie vertrauten Mikroskopikern freilich aus den verschiedensten Zusammenhängen längst bekannt — und insbesondere um der Schwierigkeiten willen, die sie der entwicklungsmechanischen Einsicht in das pathologische Zellengeschehen in den Weg stellen, oft diskutiert worden.

Besonders ergebnisreich waren durch ihr übereinstimmendes Verhalten namentlich die Zellen der Funaria- und Helodeablätter; vorzugsweise an ihnen wurde daher eine große Zahl von Versuchen durchgeführt.

Die Schwierigkeiten, die bei Kennzeichnung der oben unterschiedenen Gruppen zu erwähnen waren, sind so groß, daß ich mit meinen Berichten nicht mehr zu geben vermag, als einige orientierende Beiträge zur Lehre von der Ultraschallwirkung. Indem ich die zur ersten Gruppe gehörigen Objekte im folgenden ungenannt lasse, behandle ich einige Objekte, deren Verhalten zu einer immer erneuten Wiederholung der Versuche Anregung gab.

Spirogyra.

Zur Untersuchung kam sporenloses Material einer einbändigen Spezies, deren Querwände ungefaltet waren.

Nach einer Beschallung von 10 oder 20 Minuten war der Zustand der Zellen im allgemeinen unverändert; in einzelnen von ihnen (deren Zahl während der zweiten Beschallungsfrist von 10 Minuten erheblich anstieg) hatten sich die Schraubenbänder kontrahiert — selten in der ganzen Zelle, zumeist nur an einzelnen

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Schraubenumgängen, derart, daß die dicht gespulten Bänder hie und da an einer Zellenflanke eine Lücke im Plastidenbelag sichtbar werden ließen — eben dort, wo das Zellenlumen plastidenfrei und klar durchsichtig geworden war. In anderen Fällen hatten sich die Schraubenbänder in der eigenen Breitenrichtung zusammengezogen, so daß schmale Streifen aus ihnen geworden waren.

Chara, Nitella.

Ich untersuchte Chara foetida und namentlich Nitella flexilis.

Die Internodial- und Blattzellen wurden 5—40 Minuten lang beschallt. Die Zellen verhalten sich gegenüber solchen Angriffen sehr ungleich: Weitaus die meisten, und namentlich die Zellen der jugendlichen Blattwirtel, widerstehen selbst einer langfristigen Beschallung: Plasmakonfiguration, Plasmaströmung und Plastidenverteilung bleiben normal. In anderen Zellen werden schon nach einer Behandlung von 10 Minuten auffallende Veränderungen wahrnehmbar; wie schon oben zu erläutern war, halte ich die Annahme für naheliegend, daß es sich dabei um Zellen handelt, die schon vorher durch unkontrollierbare Angriffe irgendwie Schaden genommen hatten, der erst nach der Ultraschallbehandlung deutlich bemerkbar wird. In solchen Zellen tritt eine starke Deformation der Protoplasten ein: der Wandbelag zerreißt in mannigfaltiger Weise. Bescheidenste Veränderungen erfährt die chloroplastenhaltige Schicht dann, wenn die Plastidenreihen stellenweise ein wenig voneinander abrücken, so daß schlitzartige Spalten in dem grünen Belag sichtbar werden. Veränderungen solcher Art sind den mit Charazeen vertrauten Zellmorphologen längst bekannt und noch unlängst von Osterhout (1948) beschrieben worden.

Wo sich kleine, kreisrunde Lücken im Chloroplastenbelag nach der Beschallung zeigen, handelt es sich um eine leichte Vakuolisation des Protoplasmas: Die neu entstandenen Zellsaftbläschen verdrängen die Chloroplasten.

Zu den beschriebenen leichten kommen bei manchen anderen Zellen grobe Störungen der Plasmakonfiguration: hin und wieder stößt man in den beschallten Präparaten auf große runde Lücken des Plastidenbelags; sie erinnern an die von Höfler (1932) für Cladophora und von Küster (1933, 1951, 39) für Codium beschriebenen „Fenster"; konnte es bei diesen noch zweifelhaft bleiben, ob unter den Fenstern die Vakuolenhülle bloßgelegt erscheint oder diese noch von einer dünnen Plasmaschicht bedeckt bleibt, so läßt bei den beschriebenen Lücken der Nitellazellen die an den Fenstern vortrefflich sichtbare Protoplasmaströmung keinen

Zweifel daran, daß an diesen noch eine mächtige Lage des strömenden Plasmas erhalten geblieben ist[2].

Die Strömung des Protoplasmas bleibt in den Zellen der Nitella sogar dann noch erhalten, wenn der Protoplast nach der Beschallung in mehrere Stücke zerlegt erscheint. Besonders auffallend darf ich diejenigen Zellen nennen, in welchen große Protoplasmaklumpen in stürmischer Rotationsbewegung sich zeigten: die aus der normalerweise ruhenden äußeren Plasmaschicht stammenden Chloroplasten wurden zu Hunderten von dem rotierenden Protoplasma herumgetragen.

Phycomyces.

Die am wachsenden Myzel von Phycomyces Blakesleeanus (Plus) gesammelten Beobachtungen lassen noch keine sicheren Schlüsse über die Einwirkungen des Ultraschalls zu.

Phycomyceshyphen (auf Biomalz + 2% Agar) setzen auch nach einer 10, 20 und 30 Minuten währenden Beschallung ihr Wachstum fort; abgelöste jugendliche, etwa 1 cm lange und noch sporangienfreie Fruchthyphen werden durch ebenso lange Beschallung keineswegs vom Wachstum ausgeschlossen: unter dem Deckglas (im Wasser) liegend, lassen sie an ihrer Spitze büschelweise viele junge Hyphen hervorsprießen, auf Agar (in Luft) setzen sie oftmals ihr normales Sporangiophorenwachstum fort.

Ich bin nicht sicher, ob Ultraschall wirklich unter allen Umständen für die Spitzen der Hyphen und ihr Wachstum wirkungslos bleibt. An vielen Präparaten ließ sich schon durch eine 10 Minuten währende Beschallung an jugendlichen Sporangienträgern eine Degeneration des Spitzenprotoplasmas beobachten: Das Protoplasma war mehr oder minder stark vakuolisiert — die nach unten folgenden Abschnitte der großen Zelle blieben normal und konnten Seitenzweige produzieren.

An den Hyphenspitzen des Myzelplattensaumes (Agarplatten) fiel oftmals auf, daß nach 10 Minuten Beschallung etwa 5% von ihnen koaguliertes Protoplasma enthielten, einige vor ihrer Spitze die Spuren der Plasmoptyse aufwiesen; bei einer Beschallung von 20—30 Minuten kann die Zahl der geschädigten Hyphen sehr groß

[2] Ich bedauere, daß ich meine Versuche nicht an Caulerpa oder Valonia habe wiederholen können. Namentlich die an Valonia früher gesammelten Erfahrungen führen mich zu der Vermutung, daß ihre Plasmakonfiguration und Plastidenverteilung nach Ultraschallbehandlung beachtenswerte Aufschlüsse geben könnten.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

werden — neben ihnen (gewöhnlich etwas tiefer als die geschädigten) liegen viele ungeschädigte Hyphenspitzen mit klarem Inhalt. Setzt man ohne Beschallung die Myzelplatten der Luft aus, so daß die Oberfläche der Kulturplatte viel Wasserdampf abgibt, so werden keineswegs in gleich hoher Zahl geschädigte Hyphen erkennbar wie nach der Ultraschallbehandlung. Solche plasmatische Anomalien fehlen indessen auch an Kulturplatten nicht, die ihr Wachstum ohne äußere Störungen und ohne Wechsel der Außenweltsbedingungen betätigen können; die Zahl der benachteiligten Hyphen bleibt freilich gering.

Ich muß es dahingestellt bleiben lassen, inwieweit an den beschriebenen Protoplasmaanomalien die Beschallung ursächlich beteiligt ist.

Funaria.

Die Blätter der Funaria sind wegen der Orientierungsbewegungen ihrer Chloroplasten von den Zellphysiologen schon oftmals untersucht worden; Chloroplastenumlagerungen sind es auch, die an den Zellen desselben Objektes nach Ultraschallbehandlung auffallen.

Die Funariablätter gehören zu den Objekten, deren Zellen auf Ultraschallbehandlung mit übereinstimmenden oder doch wenigstens einander ähnlichen Reaktionen zu antworten pflegen; doch sind auch bei ihnen Unterschiede im Verhalten der Zellen, Ausnahmen von der Regel und allerhand „Anomalien“ fast in jedem Präparat zu finden, ohne daß sich die Gründe angeben ließen, welche nicht nur Blätter verschiedener Materialproben, sondern auch die derselben Pflanze, ja sogar benachbarte Teile eines und desselben Blattes so oft wesentlich verschiedene Reaktionen zeigen lassen, andererseits manche Blatteile selbst nach 30 und 40 Minuten Beschallung noch unverändert zeigen. Daß zwischen den Zellen basaler und apikaler Blattanteile bei Angriffen verschiedenster Art Unterschiede in den Reaktionen der Zellen bemerkbar werden — wobei die langgestreckten Zellen der basalen Anteile als die empfindlicheren sich erkennen lassen —, ist auch bei Ultraschallversuchen oft zu beobachten; die Zellen, welche die Mittelrippe begleiten, verhalten sich oftmals anders als die anderen Teile des Blattes und gehen mit ihren Reaktionen den andern zeitlich voraus; Traumata aller Art haben auf die Reaktionen der Funariazellen gar mannigfaltigen Einfluß; ich habe daher bei meinen Ultraschallversuchen immer wieder auf die Unterschiede wundnaher und wundferner Zellen geachtet, ohne einen sich gesetzmäßig wiederholenden Unterschied wahrnehmen zu können.

Die zuerst auftretende und manche der später folgenden stark beeinflussende Reaktion der Funariazellen ist die Vakuolisation ihres Protoplasmas; diese Wirkung der Ultraschallbehandlung, die wir bereits oben für Nitella erwähnt haben und weiter unten für höhere Pflanzen noch zu erwähnen haben werden, ist von den mit dem gleichen Thema beschäftigten Autoren schon wiederholt beschrieben worden — zugleich ist sie aus der pathologischen Zytogenese als Reaktion der verschiedenartigsten Zellen auf Angriffe der verschiedensten Art längst bekannt.

Die Vakuolenbildung veranlaßt bei Funaria eine starke Umlagerung des Protoplasmas und der Plastiden. Bildet sich eine große Vakuole in der Mitte der Zellen, deren Protoplasma dabei an den Längswänden stark reduziert, aller Plastiden beraubt und vielleicht schließlich völlig beseitigt wird, so wird das Protoplasma der Zelle in zwei Portionen zerlegt; die Zerlegung kann insofern eine inäquale werden, als in manchen Fällen eine von Plastiden reich erfüllte und eine plastidenarme Portion einander gegenüberstehen; bilden sich zwei Vakuolen in langgestreckten Zellen, so sammeln sich das Protoplasma und sein ganzer Plastidenbesitz als bikonkaver Körper in der Mitte der Zelle; die anderen Teile der Zelle sind völlig plastidenfrei. Namentlich an den basalen Teilen der Funariablätter habe ich Veränderungen der beschriebenen Art sehr oft wahrnehmen können.

Mehr Interesse beanspruchen wohl diejenigen Verlagerungen, durch welche die Chloroplasten von ihrem Platze verdrängt (ich erinnere an das oben für Nitella Gesagte) und zu dichten wandständigen Häufungen zusammengeführt werden — es entstehen Systrophen des Plasmas und der Plastiden, deren Entstehung in allen Phasen unschwer beobachtet werden kann; bei ihrem Zustandekommen spielt die aktive Leistung des Protoplasmas offenbar keineswegs die Rolle wie bei den Orientierungsbewegungen[3].

Die Plastidensystrophen der Funariablätter können an allen Teilen der Zelle und ihren Membranen zustande kommen; sie können eine einschichtige Häufung der Plastiden darstellen oder die letzteren neben- und übereinander zusammenführen. Besonders auffallend sind die an vielen Zellen beobachteten zungenförmigen Plastidengruppen, die $^1/_3$ oder $^1/_2$ oder noch größere Anteile des

[3] Als Protoplasma- und Plastidensystrophen sind in der Literatur entwicklungsmechanisch und plasmaphysikalisch wahrscheinlich sehr unähnliche Erscheinungen beschrieben worden (vgl. hierzu Germ, 1932, 1933, und die bei Küster [1951, 33 ff.] zitierte Literatur).

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Zellenlängsdurchmessers in Anspruch nehmen; bald sitzen sie der apikalen, bald der basalen Querwand auf; fast immer liegen Zellen der einen oder anderen Art gruppenweise beieinander, ohne daß Beziehungen zur Polarität des Blattes zu erkennen wären. Die Plastidengruppen können zuweilen von einer Querwand bis zur andern sich ausdehnen, so daß dann schließlich Plastidenverteilungen zustande kommen, welche der wohlbekannten Tagesstellung entsprechen: Entweder die Außenwand der Zellen ist gleichmäßig mit Plastiden belegt, oder es bleibt ein plastidenfreier rahmenartiger Rand erhalten. Diese Umlagerungen spielen sich an manchen Präparaten in sehr vielen Zellen übereinstimmend ab — auch dann, wenn man mit tagelang verdunkeltem Material, dessen Plastiden durchweg in Profilstellung sich zeigen, arbeitet und auch bei der 10, 20 oder 30 Minuten währenden Beschallung auf Verdunkelung der Objekte bedacht bleibt.

Vielschichtige Plastidenhäufungen führen ferner zur Bildung halbkugelig im Zellenlumen vorspringender, scharf umrissener, festgepackter Massen, wie sie für viele Objekte, für höhere und niedere Pflanzen bereits beschrieben worden sind. Diese Ballen vereinigen in sich oft den ganzen Plastidenbesitz der Zelle; in anderen Fällen freilich bleiben vereinzelte Plastiden noch in dem dünnen vakuolisierten Plasmawandbelag. Im ersten Falle kann es schwer werden, das restliche Protoplasma noch mit Sicherheit wahrzunehmen und zu entscheiden, ob wirklich noch Systrophen eines die ganze Zelle ausstattenden Plasmabelages vorliegen oder kugelige Reste der Protoplasten, deren Wandbelag nicht mehr vollständig erhalten geblieben ist; tatsächlich können wohl isolierte Plasmakugeln oder Halbkugeln aus Systrophen hervorgehen; in glücklichen Fällen sieht man die mit Plastiden reich ausgestattete Plasmahäufung noch von zarten plastidenlosen Strängen oder Bändern umgeben, die der letzte Rest eines bei Bildung der Systrophe stark verarmten Plasmabelages zu sein scheinen[4].

[4] Auch bei den Samenpflanzen scheint es nicht an Zellen zu fehlen, in welchen die Systrophe das Protoplasma einer Zelle so reichlich in sich vereinigen kann, daß nur noch ein sehr dünner Plasmabelag an den anderen Teilen der Zelle erhalten bleibt und schließlich auch dieser zerreißt. Sollte diese Auffassung sich bestätigen, so läge der Fall vor, daß die Vakuole nach Verarmung und schließlich nach Eröffnung des sie umhüllenden Protoplasmas ihren bisherigen zellmorphologischen Charakter verliert, mit der extrazellularen Flüssigkeit zusammenfließt und aus der systrophischen Protoplasmaballung ein (zunächst noch lebender) vakuolenfreier, halbkugelähnlich gestalteter Plasmaballen geworden ist, der von einer nicht mehr zum Zellenleib gehörenden Flüssigkeit umspült wird. Eine solche Entwicklung des Systrophenplasmas scheint auch den hier beschriebenen Gebilden zuweilen erreichbar zu sein.

Garnicht selten liegen in einer und derselben Zelle zwei mehr oder minder plastidenreiche Systrophen; auch kann sich die Bildung festgeballter Systrophen mit lokaler Nekrose des Plasmas verbinden: Vom Protoplasma kann an einer der Querwände ein mondsichelförmiger Anteil absterben und durch eine Vakuole von der lebenden Systrophe getrennt bleiben.

Plastidensystrophen können an allen Teilen der Zellwand gefunden werden; dem Beobachter fallen zuweilen Systrophen auf, die in benachbarten Zellen spiegelbildlich an der diese trennenden Wand sich entwickelt haben; sie bringen Bilder zustande, die einigermaßen mit den Zystothylenpaaren oder ähnlichen Zwillingsbildungen verglichen werden dürfen. Daß Plastidenhäufungen in benachbarten Zellen miteinander „korrespondieren", ist, wie an den hier beschriebenen halbkugelig gewölbten, auch an anders geformten bei Untersuchung der beschallten Funariablätter häufig zu beobachten. Erscheinungen dieser Art sind unter den verschiedensten Bedingungen an Chloroplasten und Chromoplasten und auch an anderen Bestandteilen der Zelle bei Objekten verschiedener Herkunft schon oft beobachtet worden (vgl. z. B. Senn 1908, Tafel 5, Figur 6; Schwengberg 1949; Küster 1929, 26 ff; 1951, 324, u. a. m.).

Blätter, deren Zellen bei Beginn der Ultraschallbehandlung Tages- (Flächen-) Stellung ihrer Plastiden aufweisen, verhalten sich bei und nach der Beschallung hinsichtlich der Vakuolisation, der Systrophen usw. im wesentlichen nicht anders als diejenigen, die bei Nachtstellung (Profilstellung) der Plastiden zur Beschallung kamen; weitaus die Mehrzahl meiner Versuche wurde mit dunkelgestelltem Material ausgeführt.

Sehr auffallend darf ich die an beschallten Blättern von Funaria beobachteten Plasmolysen nennen. Ich fand solche (Konkavplasmolysen) an den Längs- und Außenwänden der Funariazellen. Um osmotisch bedingte Plasmolysen handelt es sich dabei schwerlich; ich möchte sie mit den nach Lichtreizen und besonders nach mechanischen Angriffen namentlich an Diatomeen, seltener an vielzelligen Gewächsen beobachteten „Reizplasmolysen" vergleichen[5].

[5] Leider standen mir für meine Untersuchungen bis jetzt keine großzelligen marinen Diatomeen zur Verfügung; sie mit Beschallungsversuchen auf Reizplasmolyse zu prüfen, wäre erwünscht gewesen (vgl. Benecke 1900; Literatur bei Küster 1951, 28).

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Helodea.

Ganze oder in der Querrichtung halbierte Blätter von Helodea canadensis wurden 10, 20 und 30 Minuten beschallt.

Eine Wirkung auf den Zellinhalt wird sehr bald erkennbar: es kommt zu den für dasselbe Objekt schon oft beobachteten Plastidensystrophen (vgl. auch oben S. 85 und Küster 1929, 76); die große Mehrzahl der Chloroplasten einer Zelle sammelt sich zu einer in der Mitte oder an einer der beiden Querwände liegenden Gruppe.

Ähnliche Reaktionen geben die Zellen der Helodea densa; zuweilen (10 Minuten Beschallung) zeigen vorzugsweise die Zellen des Mittelrippenstreifens die erwähnte Systrophe, an anderen Blättern auch die Randanteile; bei meinen Versuchen zeigte sich Helodea candensis empfindlicher als Helodea densa.

Die Blätter von Helodea sind bereits wiederholt mit Ultraschall behandelt worden. Harvey, Harvey & Loomis (1928, zit. nach Bergmann, 1949) beobachteten, daß schon mäßig starke Schallintensität starke Bewegungen im Zellinneren bewirkt; der Zellinhalt wird durcheinandergerührt, kommt indessen nach der Behandlung wieder zum Normalen zurück; bei stärkerer Behandlung löst sich das Protoplasma von der Wand und kommt zu einer Zusammenballung an anderer Stelle; schließlich erfolgt sogar Zerstörung der Wände (nach Bergmann, 1949).

Meine eigenen Beobachtungen machten keineswegs mit so weitgehenden Zerstörungen bekannt wie die der genannten Autoren; doch halte ich es für möglich, daß diesen und mir ganz ähnliche Änderungen der Plasmakonfiguration vorgelegen haben.

Urtica.

Das Protoplasma der Brennhaare von Urtica erweist sich gegenüber den Ultraschallwellen als sehr empfindlich.

Ich verwendete für meine Beobachtungen ausschließlich Pflanzen von Urtica dioica, die im Gewächshaus zur Entwicklung gebracht worden waren — nachdem ich bei vielen früheren mit demselben Objekte angestellten Versuchen festzustellen in der Lage war, daß die Brennhaare der Gewächshausexemplare gleichmäßiger reagieren und nicht so oft durch die Nachwirkungen irgendwelcher äußerer Angriffe für mikroskopische Beobachtungen untauglich geworden sind wie die im Freiland entwickelten.

Flächenschnitte jugendlicher Sproßteile wurden auf ihren Besitz an Brennhaaren geprüft und beschallt.

Schon nach einer Beschallungsdauer von 5 Minuten zeigten sich die ersten Schädigungen. Ebenso wie nach längerer Behandlung (10 Minuten), bestanden sie in erster Linie in der Zerstörung der Protoplasten der apikalen Haaranteile: der Protoplast zieht sich mit Formen der Konkav- oder Konvexplasmolyse von der Wand zurück, an der er zuweilen kleine Plasmatropfen hinterläßt — oder es bleibt in dem spitzkegelförmigen Lumen nur ein zentraler Plasmastrang erhalten, der zunächst noch mit der Wand durch feine Plasmastränge verbunden ist. In noch anderen Fällen stirbt das apikale Protoplasma ab und hinterläßt als Reste nur unscharf umrissene Häufungen feiner Granula.

Es darf angenommen werden, daß die durch Ultrabeschallung geschädigten Zellen verheilen und der basale Anteil des Protoplasmas, dessen Plasmaströmung erhalten bleibt, keineswegs dem Tode verfallen ist; über die Widerstandsfähigkeit verletzter Protoplasten der Urticahaare hat namentlich Korn (1944) viele Beobachtungen zusammengestellt (vgl. Küster 1951, 611, 767, 770 ff.).

In anderen Fällen geht die Zerstörung des Protoplasmas weiter: wir finden im apikalen Teil der Brennhaare isolierte Plasmakörper, durch die wir an die bekannten Darstellungen von Kühne und an seine Beobachtungen über die Zerstörung des pflanzlichen Protoplasmas durch elektrische Reizung erinnert werden (1864).

Daß der apikale und ein sehr viel größerer basaler Anteil der Haarprotoplasten dem Ultraschall gegenüber sich so verschieden verhalten, stimmt mit vielen anderen Beobachtungen überein, nach welchen der apikale Teil der Haarprotoplasten äußeren Angriffen minder gut widersteht als der basale und in vielen anderen Fällen der erstere sogar frühzeitig eines physiologischen Todes stirbt — vielleicht ist für die Reaktionen des apikalen Protoplastenanteils das extreme Verhältnis der sehr großen Oberfläche zu dem geringen Volumen dabei maßgebend.

Zusammenfassung.

1. Ultrabeschallung (Frequenz kH 800) ruft an vielen vegetabilischen Objekten auch bei einer Behandlungsdauer von 10, 20 oder 30 Minuten keine deutlich erkennbaren Veränderungen des lebenden Protoplasten hervor (Allium, Rhoeo, Cladophora, Hydrodictyon u. a. m.).

2. An anderen Objekten werden durch dieselbe Behandlung, — an manchen schon nach 5 Minuten — deutliche Veränderungen bewirkt.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

3. Die durch Ultrabeschallung am Plasmaleib bewirkten Veränderungen zeigen bei manchen Objekten dem Mikroskopiker ganz ähnliche Bilder, wie sie durch Behandlung mit anderen Agenzien, insbesondere mit starkem Lichte und durch grobe mechanische Angriffe, hervorzurufen sind.

4. An den von mir gewählten Objekten werden durch die Ultrabeschallung morphologische Veränderungen am Zellenleibe hervorgerufen, die auch als Kennzeichen vieler auf anderem Wege erzielbarer Schädigungen bekannt sind — Vakuolisation, Zerreißung und Zerklüftung des Protoplasmas (Nitella, Funaria), tropfiger Zerfall desselben (Urtica), Abhebung des Plasmas von der Wand (Urtica, Funaria), Verlagerungen der Plastiden, insbesondere systrophische Ballung derselben (Funaria, Helodea).

5. Membranzerreißungen sind in der biologischen Ultraschalliteratur für vegetabilische Zellen bereits wiederholt erwähnt worden (vgl. z. B. Loza); bei den von mir geprüften Objekten und unter den von mir angewandten Beschallungsbedingungen war von solchen Wirkungen nichts zu bemerken. Vakuolisation, Zerfall des lebendigen Protoplasmas und systrophische Ballung desselben sind von den für Ultraschallwirkungen interessierten Biologen schon wiederholt wahrgenommen worden; Reizplasmolysen als Wirkung der Ultraschallbehandlung haben Yamaha & Ueda (1939) bereits beobachtet (Vicia faba).

Künftige Untersuchungen werden darüber Auskunft zu bringen haben, ob Ultraschallbehandlung vielleicht durch die bei ihr wirksam werdende „Feinvibration" das lebendige Protoplasma derart erschüttern kann, daß seine Viskosität herabgesetzt und mit dieser auch sein Quellungsvermögen, seine Permeabilität[6], sein Verhalten gegenüber Vitalfarbstoffen und Giften verändert werden — oder vielleicht auf dem Wege über die von den Ultraschallwellen bedingte Kavitation[7] (vgl. Bergmann 1949) oder über die durch

[6] Beiträge zu diesen Fragen z. B. bei Schmitt & Uhlemeyer (1930).

[7] Als Kavitation bezeichnet man die Entstehung kleiner Hohlräume in Flüssigkeiten nach Ultraschallbehandlung: entweder es entstehen Hohlräume in ihnen während der Dehnungsphase der Schallwellen (echte Kavitation), oder es handelt sich um Austreibung der in der Flüssigkeit gelösten Gase (unechte Kavitation). Anzeichen solcher Hohlraumbildung sind mir an meinen Objekten bisher nicht aufgefallen, obwohl die durch Entgasung entstandenen auch nach Abschaltung der Schallenergie und bei nachfolgender mikroskopischer Untersuchung noch hätten sichtbar sein sollen. Falls in

Ultraschall veranlaßten physikalischen (lokale Erwärmung usw.) oder chemischen Veränderungen (Oxydation, Peptisation, Depolymerisation usw. — vgl. Bergmann 1949, auch Schmid, J. D., Paret & Pfleiderer 1952) auch anders geartete Veränderungen am lebendigen Zellinhalt hervorgerufen werden können, die mit den durch intensives Licht oder durch grobmechanische Eingriffe bewirkten nicht gleichzustellen sind.

Herrn Prof. Dr. L. Bergmann (Wetzlar) sage ich für die stets bereitwillige Güte, mit der er mich bei meinen Arbeiten beraten hat, meinen herzlichsten Dank.

Die Optischen Werke E. Leitz (Wetzlar) haben wie bei vielen früheren Arbeiten so auch bei den hier behandelten mich in hohem Maße gefördert; für alle Hilfe sage ich ihnen meinen besten Dank.

Literaturverzeichnis.

Benecke, W., 1900: Über farblose Diatomeen der Kieler Föhrde (Jahrb. f. wiss. Bot. **35**, 535).

Bergmann, L., 1949: Der Ultraschall und seine Anwendung in Wissenschaft und Technik, 5. Aufl. Stuttgart.

Frey-Wyssling, A., 1938: Submikroskopische Morphologie des Protoplasmas und seiner Derivate (Protopl.-Monogr. **15**). Berlin.

— 1948: Submicroscopic morphology of protoplasm and its derivatives. New York.

Germ, K., 1932: Untersuchungen über die systrophische Inhaltsverlagerung in Pflanzenzellen nach Plasmolyse I (Protopl. **14**, 566).

— 1933: Untersuchungen über die systrophische Inhaltsverlagerung in Pflanzenzellen nach Plasmolyse II u. III (Protopl. **17**, 509; **18**, 260).

Harvey, E. N., Harvey, E. B. & Loomis, H. L., 1928: Further observations on the effect of high frequency sound waves on living matter (Biol. Bull. Marine biol. Lab. **55**, 459).

Harvey, E. N. & Loomis, A. L., 1928: High frequency sound waves of small intensity and their biological effects (Nature **121**, 622). London.

Höfler, K., 1932: Plasmolyseformen bei Chaetomorpha und Cladophora (Protopl. **16**, 189).

Kahl, H., 1944: Über den Einfluß von Schüttelbewegungen auf Struktur und Funktion des pflanzlichen Plasmas. Diss. Darmstadt.

lebendem Protoplasma Kavitation der einen oder anderen Art vor sich gehen kann, so gäbe diese Form der Ultraschallwirkung vielleicht Anlaß, auf die Frage zurückzukommen, was für Wirkungen, insbesondere zerstörende, eine Zerreißung auf das Leben des Protoplasmas habe. — Zur Kavitation (und zwar zur unechten) gibt die normale Zytogenese wohl mit der Entstehung von Gasvakuolen eine Parallele: Gasvakuolen entstehen im Zellenleibe verschiedener Protophyten, vornehmlich in dem der Blaualgen; dafür, daß die Entstehung der Gasvakuolen eine Schädigung der Protoplasten bedeute, sind bisher keine Anhaltspunkte bekannt.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Korn, Ch., 1944: Über die Vernarbung der Brennhaare von Urtica dioica. Diss. Gießen (vgl. auch Ber. d. Oberhess. Ges. f. Natur- u. Heilk. Gießen, Naturwiss. Abt., N. F. **24**, 116, 1949).
Küster, E., 1929: Pathologie der Pflanzenzelle I. Pathologie des Prototilität. Leipzig.
Küster, E., 1929: Pathologie der Pflanzenzelle I. Pathologie des Protoplasmas (Protoplasma-Monographien III). Berlin.
— 1933: Dellen und Löcher im Protoplasma lebender Pflanzenzellen (Protopl. **19**, 444).
— 1950: Über die Lagerung der Chromoplasten (Beobachtungen an pflanzlichen Haaren) (Protopl. **39**, 282).
— 1951: Die Pflanzenzelle, 2. Aufl. Jena.
Loza, J., 1950: Recherches physiologiques et histologiques sur les effets provoqués par les ultra-sons chez les végétaux (Rev. gen. de bot. **57**, 594).
Osterhout, W. J. V., 1948: Anormal protoplasmic patterns and death in slightly hypertonic solutions (Journ. gen. physiol. **31**, 291).
Schmid, G., Paret, G. & Pfleiderer, H., 1951: Die mechanische Natur des Abbaus von Makromolekeln mit Ultraschall (Kolloid-Zeitschr. **124**, 150).
Schmitt, F. O. & Uhlemeyer, B., 1930: The mechanism of the lethal effect of ultrasonic radiation (Proc. Soc. exper. Biol. Med. **27**, 626; zit. nach Bergmann, 1949).
Schwengberg, L., 1949: Beiträge zur Kenntnis der Vakuolen- und Protoplasmakonfiguration der Pflanzenzelle. Diss. Gießen (vgl. auch Ber. d. Oberhess. Ges. f. Natur- u. Heilk. Gießen, Naturwiss. Abt. N. F. **24**, 157, 1949).
Senn, G., 1908: Die Gestalts- und Lageveränderungen der Pflanzen-Chromatophoren. Leipzig.
Tscherniuk, E., 1940: Biological actions of ultrasounds (Bull. biol. and med. exp. URSS **8**, 123; vgl. Ber. wiss. Biol. **54**, 28, 1940).
Yamaha, G. & Ueda, R., 1939: Über den Einfluß der Ultraschallwellen auf die Wurzelspitzenzellen von Vicia faba. Ein Orientierungsversuch (Cytol. **9**, 524).